

文化財公開施設内生物調査における浮遊菌測定手法の検討

著者	間瀬 創, 小鷲 悠, 篠原 史彦, 岩田 利枝, 木川 りか, 佐野 千絵
雑誌名	保存科学
号	45
ページ	195-206
発行年	2006-03-31
URL	http://id.nii.ac.jp/1440/00003668/

文化財公開施設内生物調査における 浮遊菌測定手法の検討

間瀬 創・小鷲 悠*・篠原 史彦*
岩田 利枝*・木川 りか・佐野 千絵

1. はじめに

文化財の保存においてカビ被害の防止は重要な項目の一つである。カビによる文化財への影響は、胞子・菌糸などによる汚損や分泌物・代謝物による着色、菌糸の成長による基質の脆弱化や酵素による分解等の化学的・物理的な劣化、文化財害虫の誘引による虫害や、食物連鎖による虫・カビの生態系の形成と加害範囲の拡大など二次的な被害が挙げられる。これらの被害の回復は非常に難しく、文化財本来のオリジナリティを損うような処置を伴わざるをえないこともある。文化財の予防的保存において、館内の真菌を主とする微生物環境の把握は予見される生物被害のリスク評価を目的に行われ、また文化財展示施設において近年取り入れられているIPM(総合的有害生物管理)に対して重要な情報を提供するものと考えられる。

環境中の真菌は捕集方法により主に付着菌、落下菌、浮遊菌の3つに大別して調査され、それぞれについて様々な採取・調査法が存在する。これまで日本の文化財保存において多くの付着菌や落下菌に関する調査が行われており、文化財保存環境中の菌種や真菌レベル等の報告がされている¹⁻²³⁾。付着菌調査は一定面積を滅菌綿棒での拭取り、培地に接種、或いはコンタクトプレート等によって測定点から直接培地に接種し、落下菌調査(バッシブサンプリング)は培地を一定時間空気に曝露して空気の対流とともに落下してくる胞子等を捕集する。これらは定量的な測定は難しいが、特別な機器を使用することなく比較的簡易に行うことができる。これに対して浮遊菌は空中に浮遊する真菌の胞子などをエアサンプラーにより空気とともに吸引・捕集し培地に接種するという方法(アクティブサンプリング)で行われる。従って既往の文化財に関わる浮遊菌調査の報告²⁴⁻²⁷⁾に関して使用する機器や培地によって再現性やデータの互換性について定かではない。

浮遊菌調査に用いられる浮遊菌サンプラーには、大型で粒子径で分離できるもの(アンダーセンサンプラー)、真菌量の経時変化が測定できるもの(スリット式サンプラー)、小型の携帯型サンプラーなど多くの種類・機種がありそれぞれ異なる特徴をもっている。また採取・培養に使用する培地についても湿性菌、乾性菌、酵母など対象とする菌種によって多くの種類が存在する。

環境中の浮遊菌測定法におけるこれらの浮遊菌サンプラーの特性については山崎により報告がされており、粒子径の小さな細菌による測定から定置型の大型サンプラーに対して携帯型サンプラーの捕集効率の劣位が報告されている²⁸⁾。しかし特定の環境(住宅、オフィス、食品加工、精密機器製造、屋外など)においては浮遊菌調査の目的が異なり、当然ではあるがその結果、浮遊菌サンプラーと培地の選択・使用に関する基準は異なる。文化財展示施設での環境についての調査対象は細菌や酵母よりも不完全菌類・担子菌類等のいわゆるカビが主なターゲットであり、また健康被害を想定した公衆衛生面での調査もさることながら、文化財に対する生物被害の予見やリスク評価のための情報を得ることが第一義であると考えられる。

文化財公開保存施設という特定の環境において、また文化財の保存に対して有用な情報を提

* 東海大学

供するための浮遊菌調査法とその根拠は今のところ明確ではなく、機器・培地の検討を踏まえた浮遊菌調査法の確立が必要である。

本研究は文化財公開施設内での浮遊菌調査手法の確立を目的とし、館内で簡易に測定できる携帯型サンプラーによる採取・調査法について、代表的な浮遊菌サンプラーの機種特性や再現性と培地の種類を変更した場合の捕集効率や菌種の変化について検討した。また館内浮遊菌調査の事例について検討した。

2. 実験

2-1. 浮遊菌サンプラー

文献を基に浮遊菌サンプラーの種類と特性を真菌の調査法とともに表1に示す。本研究では既往の研究や文献等から代表的な携帯型浮遊菌サンプラー3種を選択し実験を行った(写真1)。

- ・RCS Standard (以下, RCSsと省略)
Biotest社製・回転遠心法・アガーストリップ・吸引流量40L/min
- ・RCS High flow (以下, RCSHと省略)
Biotest社製・回転遠心法・アガーストリップ・吸引流量100L/min
- ・BIO SAMP MBS-1000 (以下, BIOと省略)
ミドリ安全社製・多孔板法・φ90mm平面培地・吸引流量100L/min

表1 真菌の調査法

捕集機構		測定法	実例
落下菌	落下法	シャーレ開放	Koch法
		ステンレス鋼版法	NASA法
		掃除機法	
浮遊菌	衝突法		M/Gエアサンプラー
			PBIエアサンプラー
		スリット法	NSBスリットサンプラー
			Casellaスリットサンプラー
		ピンホール法	ピンホールLTサンプラー
			ピンホールサンプラー
			多段型測定器 アンダーセンサンプラー
付着菌	スタンプ法		SASサンプラー
		多孔版法	MAS-100サンプラー
			携帯型測定器 MATサンプラー
			MBS1000サンプラー
		回転遠心法	RCSサンプラー
付着菌	スタンプ法	拭取り法	スワブ法
			コンタクトスライド
			RODACプレート



RCS Standard [Biotest社製]



RCS High Flow [Biotest社製]



BIO SMAP [ミドリ安全社製]

写真 1 浮遊菌サンプラー

2-2. 培地

採取・培養に用いる培地は養分や浸透圧等の違いから数十以上の種類があり、対象とする菌類や採取の目的に合ったものを選択する必要がある。日本における文化財分野ではこれまでMA, YMが落下菌測定に多く用いられ¹⁻²³⁾、好稠性真菌にはDG-18やMA40(MA+ sucrose)が一般的に用いられてきた。本研究で用いた培地を以下に示す。

- ・ サブロー寒天培地 - Sabouraud's Agar (以下, SABと省略)
 日水製薬社製・酵母, 真菌及び耐酸性微生物の培養用
- ・ ジャガイモブドウ糖寒天培地 - Potato Dextrose Agar (以下, PDAと省略)
 日水製薬社製・真菌, 特に糸状菌の分離・保存・同定
- ・ 麦芽エキス寒天培地 - Malt Extract Agar (以下, MAと省略)
 研究室作成・一般真菌用培地
- ・ DG-18培地
 Biotest社製・好稠性真菌用培地
- ・ YM培地
 Biotest社製・一般真菌・酵母用培地

2-3. サンプラーの比較実験

RCSs／培地YM, RCSH／培地YM, BIO／培地PDAを使用してサンプリングし、コロニー形成単位 (Colony Forming Unit, 以下ではCFUと省略) の繰り返し測定の見誤差, サンプリング吸引量と捕集真菌数の関係, 各サンプラーで測定された浮遊菌濃度の相関について実験を行った。

2-4. 培地の比較

主に湿性菌の培養を目的とした3種の培地, SAB, PDA, MAについてBIOを使用してサンプリングし, CFUと生育状態の比較をおこなった。また培養した真菌の属までの同定を行い培地間の比較を行った。

2-5. 文化財公開施設内での浮遊菌調査

美術館・博物館等の文化財公開施設内における浮遊菌測定の実験事例を示し、得られたデータからカビ被害のリスク評価・対策の方針等を検討する。

3. 結果と考察

3-1. サンプラー比較実験

3-1-1. 繰り返し測定誤差

繰り返し測定(N=33)をした結果RCSs(相対標準偏差: 12.1%)>RCSH(6.9%)>BIO(6.5%)であった。測定誤差に関してRCSsが他の2機種より劣っていることが分かった。RCSsの吸引流量は40L/minと他2機種(100L/min)より少ないため測定位置の気流の影響を受けやすいことが原因の一つと考えられる。

3-1-2. 吸引量と捕集真菌数

サンプリング吸引量と捕集真菌数の関係を図1に示す。RCSH, BIOについて、少吸引量域で多少のふらつきが見られるものの、すべてのサンプラーにある程度の線形性が見られた。真菌捕集量は全般的にBIOが多く、吸引量に対する真菌捕集効率が高いことが分かった。BIOは多孔版法・平面培地使用なのに対し、RCSs, RCSHが回転遠心法・アガーストリップであるという測定方法や真菌孢子等の培地への衝突条件の違いが捕集効率に大きな影響を与えていると考えられる。またサンプラーの構造上、特にRCSs, RCSHについて排気の再吸引の可能性があるため、測定時のサンプラー設置状態の影響を受け易い。室内での設置場所やサンプラーをのせる三脚等の高さを十分取り(通常床から1m前後)、各測定地点間で一定に保つなど測定位置や条件等、排気の再吸引を防ぐことに留意する必要がある。

3-1-3. データ相関

各サンプラーの同一条件下で測定されたデータを1対1で対応させてプロットしたものを図2a, b, cに示す。低真菌濃度から高真菌濃度までの環境で、各サンプラー間により相関が見られた。各サンプラーから得られたデータ間である程度の換算も可能であると考えられる。

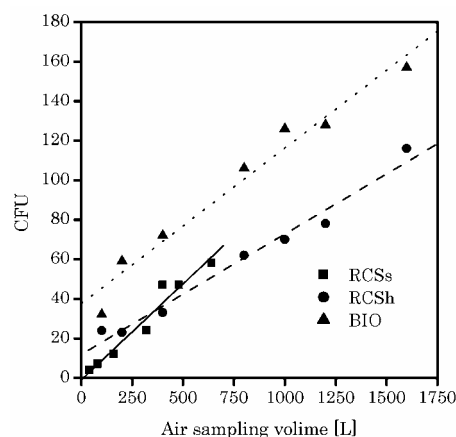
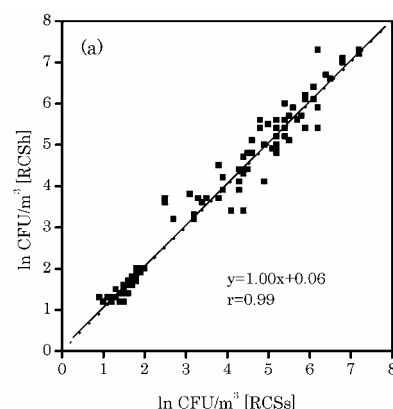


図1 サンプリング吸引量と捕集真菌数



(a) RCSs[x]/RCSH[y]

図2 浮遊菌サンプラー捕集真菌数比較

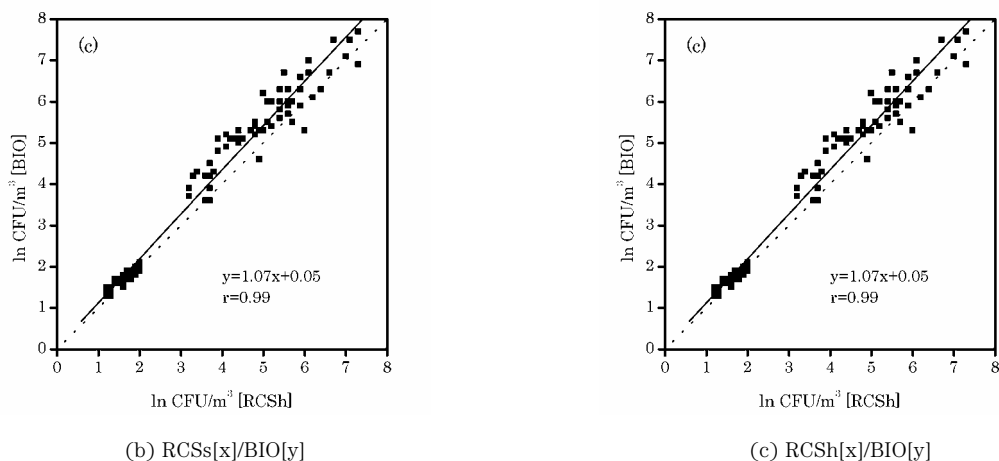


図2 浮遊菌サンプラー捕集真菌数比較

3-2. 培地間比較

環境の異なる11地点において、各地点で3種の培地を用いて行った測定(N=5)を図3に示す。測定環境中の菌種・菌レベルによらず今回測定した11地点において各培地間でのCFUの相違はあまりないが、培地上の菌の育成は明らかに違い、PDA、SABは比較的にコロニーの発達がよく、MAは大きく生育しなかった(写真2)。確認できた菌種はPDAが最も多かった(表2)。

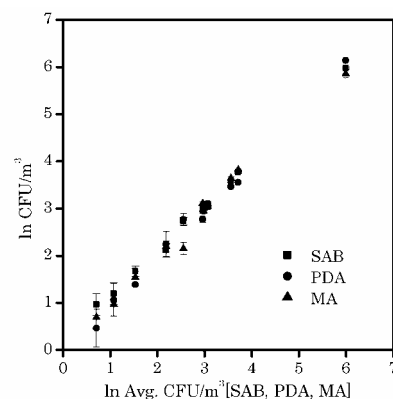


図3 培地によるCFU比較
横軸は各地点のSAB、PDA、MAの平均CFU/m³の対数、縦軸は各培地のCFU/m³の対数。

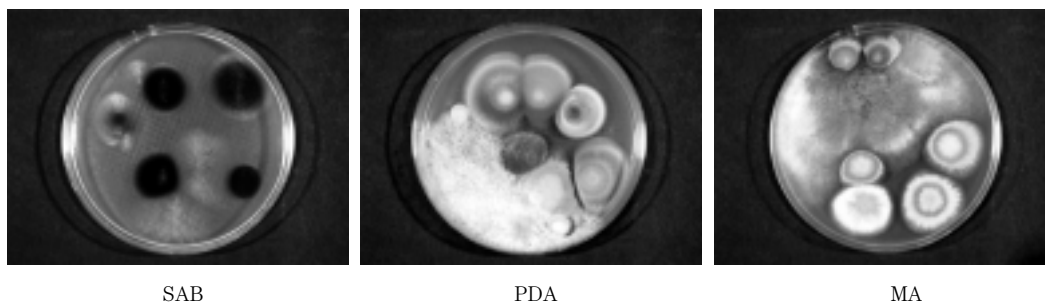


写真2 培地上の育成状態

表2 菌種比較

SAB	PDA	MA
<i>Penicillium</i> sp.1	<i>Penicillium</i> sp.1	<i>Penicillium</i> sp.1
<i>Penicillium</i> sp.2	<i>Penicillium</i> sp.2	<i>Penicillium</i> sp.2
<i>Penicillium</i> sp.3	<i>Penicillium</i> sp.3	
<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i> sp.4	2 unidentified
	<i>Fusarium</i>	
1 unidentified	<i>Cladosporium</i>	
	3 unidentified	

3-3. まとめ：文化財展示施設における機器の選択と浮遊菌測定の意味

文化財展示施設における浮遊菌調査に用いるサンプラーについて、測定誤差と捕集効率においてBIOが優位であった。空調が完備され的確にコントロールされている文化財公開施設では真菌レベルが比較的低いため、捕集効率が良く、吸引量250L以上で比較的良好な直線性がみられたBIOの使用が有効であると考えられる。

培地の種類によるCFUの差異はあまり大きくなく、湿性菌に関する調査の場合SAB、PDA、MAのいずれの使用でも問題がないことが分かった。浮遊菌測定の目的が、空調の完備されている比較的真菌レベルが低いと考えられる文化財公開施設で、菌種の確認まで考慮に入れる場合は多種の真菌の生育に適したPDA培地の使用が望ましい。逆に真菌レベルが高いと考えられる環境での測定では培地上のコロニーの発達が活発で、育成速度が早いSAB、PDAは計数時に数え落とす可能性があり、また分離・培養・同定の際にコンタミネーションへの注意が必要である。逆に比較的真菌レベルが高いと考えられる場所での測定ではコロニーの発達が活発でないMA培地が計数の際数え落としが少なく分離作業を含め効率よく作業が進められる。

ただし浮遊菌レベルは、季節的な変動や気候・天気などによって大きく影響を受け、また文化財展示施設という特別な使用条件・目的において、各測定点のCFUを厳密に住宅やオフィス、工場等の空気清浄度の指標値などとの単純な比較による評価が妥当であるかは疑問である菌種の傾向(外気・屋内、土壌・植物腐生、カビ毒性・健康被害等)と各測定点の相対的な真菌レベルの分布の把握が予見される館内カビ被害のリスク評価のための重要な情報であり、施設の年間の傾向・動向について把握することが重要である。

4. 文化財公開施設における測定

文化財公開施設における浮遊菌測定の事例を図4a, bに示す。

図4aは緑地帯に立地する古い建築物での測定で、外気真菌レベルの高い7月の測定であったことと、比較的外気流入量が多いと考えられることから、BIO/培地MAの組み合わせで行った。

捕集された真菌は多種で、一般的に外気で多く見られる種類のものが多く、館内各地点で捕集された真菌は外気から捕集されたものと同種のものが多かった。また外気測定では土・塵などとともに孢子や菌糸体がかたまっ捕集されるためか、コロニーが重なった状態で育成することがよく見られるが、②エントランス③収蔵庫入口でもこのような育成が見られた(写真3)。

①外気 540CFU/m³が最大で、②エントランス 200CFU/m³、③収蔵庫入口 120CFU/m³、⑥2

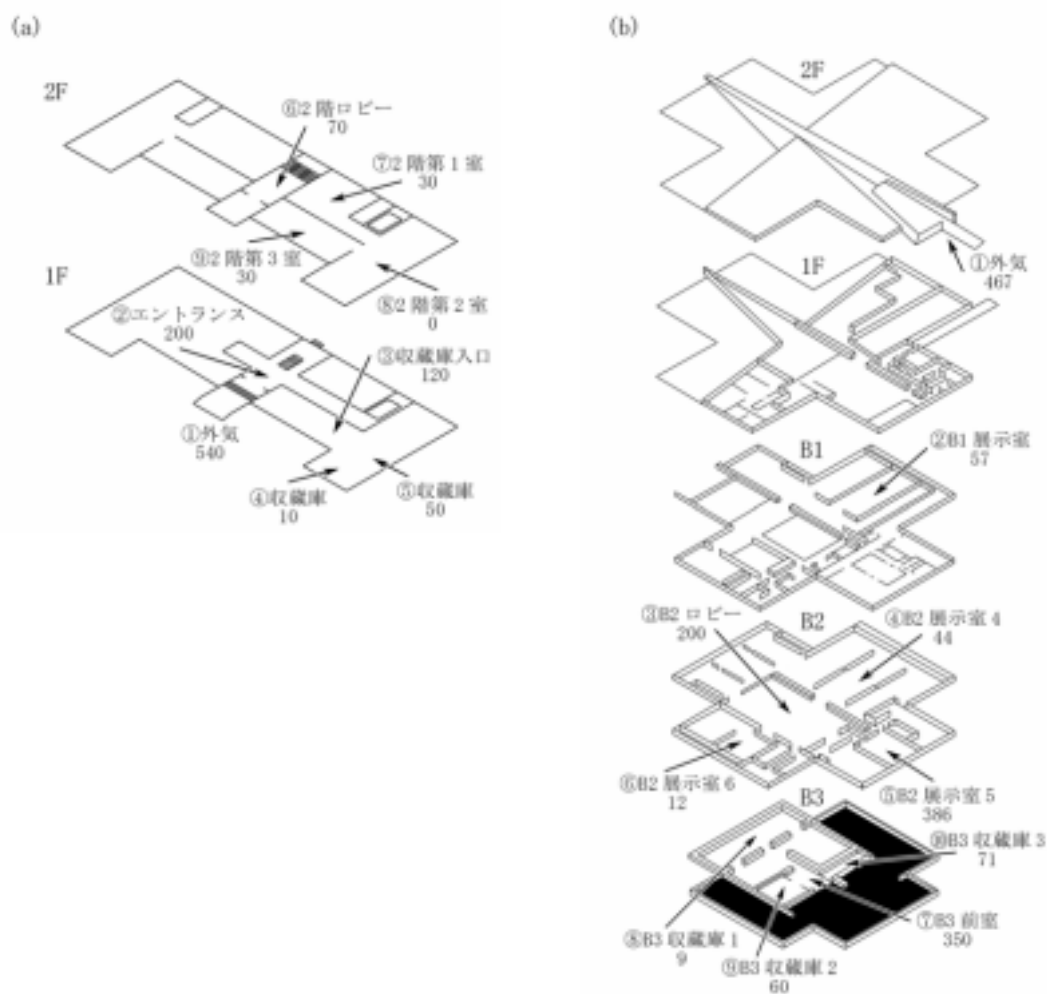


図4 浮遊菌調査事例 各測定地点の数値はCFU/m³

Fロビー 70CFU/m³と1F・2Fともに①外気からの距離に伴いCFUが減少している。また③収納庫入口と比較して④収納庫 10CFU/m³、⑤収納庫 50CFU/m³と真菌レベルが低いことから、屋外とつながる一般空間と収納庫との空気環境的な隔離がなされていることが分かる。

以上の菌種とCFUの状況からエントランスが外気的主要な外気流入点であり、一般空間と展示室でのカビ被害発生のリスクは真菌レベルの高い外気の流入によって高くなると考えられる。また収納庫でのカビ被害の発生は外気由来によるものでない可能性を考慮する必要がある。したがって展示室でのカビ被害予防・対処としては展示ケース等を用いた真菌レベルの高い外気の遮断、収納庫では収納庫環境(温湿度の分布、空気清浄度、収蔵品の配置等)の改善が有効であると考えられる。

図4bの施設は、森林に囲まれた緑豊かな場所に近年に建てられたものである。採取時期は12月で、また空調が完備しているため浮遊真菌数は少ないと予想されたため、BIO/培地SABの組み合わせでおこなった。

真菌レベルの高い①外気 467CFU/m³が吹き抜けを通じて③B2ロビー 200CFU/m³までCFU

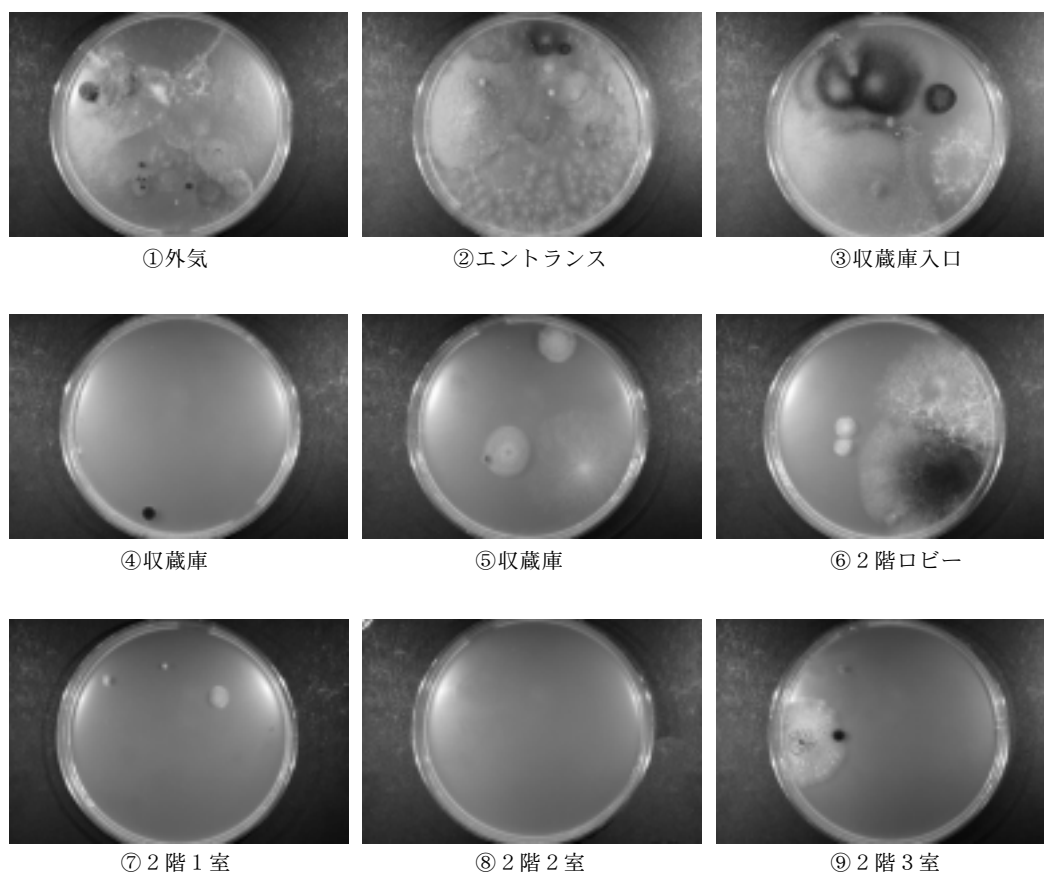


写真3 図4(a)調査事例

が高くなっているが、②B1展示室 $57\text{CFU}/\text{m}^3$ 、④B2展示室 $44\text{CFU}/\text{m}^3$ 、⑥B2展示室 $612\text{CFU}/\text{m}^3$ の展示室内では真菌レベルが比較的低くなっており、吹き抜けを含む大空間と展示室とは空気環境的には差異があることが分かる。これに対して⑤B2展示室 $386\text{CFU}/\text{m}^3$ において外気との接点がある③B2ロビーよりも真菌レベルが高くなっており、外気由来以外の原因の可能性が考えられる。展示室内や空調ダクト内・吹き出し口などでの局所的なカビ発生も考えられることから点検の必要があるかもしれない。また⑦B3前室 $350\text{CFU}/\text{m}^3$ の真菌レベルが高いことから、B3の空気環境に原因があると考えられ、この地点の空気環境の点検・改善の検討が必要であるかもしれない。各収蔵庫内では真菌レベルが比較的低いことから前室から収蔵庫内への人・物・空気の移動に注意し、収蔵庫内の空気環境の清浄維持が重要であると考えられる。

5. まとめ

調査事例に示したような浮遊菌の館内における菌種の比較と浮遊真菌量の相対的な分布の把握から、試験場所が将来受ける可能性のあるカビ被害のリスク評価と発生後の対処を検討することを目的に浮遊菌調査を行う場合には、その情報を得るために最も有利な浮遊菌サンプラーと培地を選択する必要がある。実験の結果、測定誤差と捕集効率においてBIO SAMPが優位で

あり、菌種の確認はPDAにおいて多くの菌種同定が可能であった。これらの組み合わせが文化財公開施設において最も汎用性が高いと考えられる。また培地によるCFUの違いは大きくなかったため、浮遊真菌量の高いと想定される施設では、あらゆる菌種で全般的に生育速度の遅いMA培地の選択も可能である。

以上の結果を受けて、現在、著者らは、以下のように浮遊菌調査をおこなっている。

1. 館内移動と培地の交換が容易な携帯型サンプラーを用いる。
2. 浮遊真菌量が多いと想定される施設ではMA培地、空調が完備した施設ではPDA培地を選択する。
3. 外気流入の有無を判断するには、浮遊真菌量とともに菌種の比較が重要である。
4. 菌種同定は、公衆衛生の観点から健康被害の可能性を検証するために重要である。
5. 文化財へのカビ被害の予見のために、浮遊真菌を培養して生育速度、基質への影響、代謝物による汚損や損壊の可能性を検討する。
6. 浮遊真菌量は季節変動が大きいため、カビ被害のリスク評価のためには、あらかじめ年間通しての多数回の調査が必要である。
7. 清掃やフィルターの追加など、採用した対策の評価を行う上で、浮遊菌調査は有効である。

文化財公開施設における文化財へのカビ被害防止のためには、湿性浮遊菌のほかには好稠性真菌や付着菌についての情報も重要であり、今回行った浮遊菌調査法との関連も含め今後の検討課題である。

参考文献

- 1) 江本義数: 奈良正倉院構内及びその付近の空中微生物, 殊に糸状菌に就いて, 保存科学, 第1号, 12-27 (1964)
- 2) 江本義数: 日光東照宮等二社一寺建造物の黴害とその防除, 保存科学, 第2号, 1-15 (1966)
- 3) 江本義数: 国宝中尊寺金色堂に発生した黴と建築用材, 保存科学, 第3号, 40-54 (1967)
- 4) 江本義数: 法隆寺金堂焼損壁体の黒斑と黴, 保存科学, 第5号, 21-33 (1969)
- 5) 江本義数: 法隆寺壁画再現パネルの防黴, 保存科学, 第7号, 99-106 (1971)
- 6) 江本義数: 広島県立美術館内の空中菌, 保存科学, 第7号, 107-111 (1971)
- 7) 江本義数: 寺院収蔵庫内の空中菌, 保存科学, 第8号, 73-79 (1972)
- 8) 江本義数: 奈良国立博物館内の空中微生物, 保存科学, 第8号, 81-86 (1972)
- 9) 江本義数: 日本万国博覧会美術館内の空中微生物, 保存科学, 第9号, 43-50 (1972)
- 10) 江本義数: 神奈川県伊勢原市宝城坊の薬師三尊の防黴, 保存科学, 第9号, 51-53 (1972)
- 11) 江本義数, 江本義理: 装飾古墳内の微生物調査 福岡県王塚古墳, 熊本県チブサン古墳, 保存科学, 第12号, 95-101 (1974)
- 12) 新井英夫: 建築彩色に発生する糸状菌の防除法, 保存科学, 第18号, 27-34 (1979)
- 13) 新井英夫, 森八郎, 門倉武夫: レオナルド・ダ・ヴィンチ展における生物劣化防除, 保存科学, 第18号, 35-39 (1979)
- 14) 新井英夫, 森 八郎: 新設博物館における生物的問題, 保存科学, 第19号, 1-7 (1980)
- 15) 新井英夫: 木造建造物に発生した変形菌について—明治村・北里研究所本館—, 保存科学, 第21号, 41-45 (1982)
- 16) 新井英夫: 紙質類文化財の保存に関する微生物学的研究 (第1報) 紙の褐色斑 (foxing) から糸状菌

の分離, 保存科学, 第23号, 33-39 (1984)

- 17) 新井英夫: 紙質類文化財の保存に関する微生物的研究(第5報), 保存科学, 第26号, 43-52 (1987)
- 18) 木川りか, 新井英夫: 各種文化財などの糸状菌同定報告, 保存科学, 第34号, 8-12 (1995)
- 19) 佐野千絵, 三浦定俊, 木川りか: 東京都美術館「法隆寺金堂壁画展」に関する保存環境調査, 66-73 (1996)
- 20) 佐野千絵, 志多伯峰子, 佐藤一博, 浅井真帆, 早川仁英, 能見勝利, 木川りか, 三浦定俊: 図書資料のカビ対策: 三康図書館の事例, 保存科学, 第42号, 87-100 (2003)
- 21) 木川りか, 佐野千絵, 三浦定俊: 高松塚古墳の微生物調査の歴史と方法, 79-85 (2004)
- 22) 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: 国宝・高松塚古墳壁画保存のための微生物対策に関わる基礎資料ーパラホルムアルデヒドの実空間濃度と浮遊菌・付着菌から見た微生物制御ー, 保存科学, 第43号, 95-105 (2004)
- 23) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳の前室および石室における菌類調査報告, 保存科学, 第44号, 165-172 (2005)
- 24) 新井英夫: 障壁画保存環境の微生物, 保存科学, 第12号, 35-38 (1974)
- 25) 江本義理, 門倉武夫, 見城敏子, 新井英夫: 史跡虎塚古墳彩色壁画保存に関する調査研究 (受託研究報告第51号), 保存科学, 第22号, 121-146 (1983)
- 26) 新井英夫: ネフェルタリ王妃墓の微生物について, 保存科学, 第27号, 13-20 (1988)
- 27) 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳開封前の石室内空気環境調査報告, 保存科学, 第44号, 157-164 (2005)
- 28) 山崎省二編: 環境生物の測定と評価, 株式会社オーム社 (2001)

キーワード: カビ(mold); 浮遊真菌(air born mold); エアサンプラー(air sampler); CFU(colony forming unit); 博物館・美術館(museum)

Evaluation of Methods for Measuring Airborne Mold in Museums

Hajime MABUCHI, You KOWASHI*, Fumihiko SHINOHARA*,
Toshie IWATA*, Rika KIGAWA and Chie SANO*

It is an important matter to avoid damage caused by microorganisms to cultural properties. Acquiring information about the environment of microorganisms in storages and exhibition rooms in museums is principal for the preventive conservation of cultural properties.

In this research, suitable active sampling methods for airborne mold in museums were investigated by comparing the performance of portable air samplers and mediums. Then a risk evaluation of microorganism infection was done on the research examples.

BIO SAMP was superior in the minimum error margin, high detect efficiency, and linearity between sampling air volume and CFU(Colony Forming Unit). The amount of CFU was almost the same on each medium, even though the growth appearance of mold on mediums was different, and the largest number of mold species could be identified on PDA. Measuring with BIO SAMP/PDA is suitable in museums where the mold spore level might be low, while the use of MA is better in counting colonies on medium when mold spore level might be high.

A proper combination of air sampler and medium should be selected to obtain information, which is given from species of mold and relative distribution of CFU in a museum, to evaluate the risk of mold infection and avoid future incident.

*Tokai University

